

201231026A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成25(2013)年4月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成 25 (2013) 年 3 月

<目 次>

I.	総括研究報告書	
1.	中枢性摂食異常症に関する調査研究	1
	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科糖尿病・内分泌・代謝内科 小川 佳宏	
II.	研究者名簿	7
III.	分担研究報告書	
1.	飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解明	8
	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科糖尿病・内分泌・代謝内科 小川 佳宏	
2.	低栄養母体出生児の推測される神経内分泌学的異常 (第2報): ラットモデルで みられた新規環境下での多動とストレス負荷後の摂餌量の減少	11
	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 芝崎 保	
3.	機能的磁気共鳴画像法を用いたヒトにおける食欲制御機構の解明	14
	京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科 中尾 一和	
4.	熱代謝の調節におけるグレリン作用の解析	17
	久留米大学分子生命科学研究科遺伝情報研究部門 児島 将康	
5.	エネルギー情報と神経ヒスタミンの応答系	21
	大分大学医学部総合内科学第一講座 正木 孝幸	
6.	消化管ペプチドによる末梢からの摂食調節シグナルの解析	23
	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野 中里 雅光	
7.	神経画像を用いた神経性食思不振症の中枢神経機能障害探索	28
	名古屋大学大学院医学系研究科精神医学・親と子どもの心療学分野 尾崎 紀夫	
8.	本邦における摂食障害家族会の実態調査	34
	政策研究大学院大学保健管理センター 鈴木 (堀田) 眞理	
9.	中鎖脂肪酸トリグリセリド投与によるグレリン活性化の研究 —神経性食思不振症患者における検討—	38
	九州大学病院 久保 千春	
10.	中枢性摂食異常症疫学調査: 小児思春期摂食障害の評価における EAT26 の 有用性	45
	国立成育医療研究センター内分泌代謝科 堀川 玲子	
11.	摂食障害の疫学調査	49
	摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワーク形成ワーキング グループ	
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	55

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成 24 年度

I. 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

中枢性摂食異常症に関する調査研究

研究代表者	小川 佳宏	東京医科歯科大学医学部糖尿病・内分泌・代謝内科 教授
研究分担者	芝崎 保	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 教授
	児島 将康	久留米大学分子生命科学研究所遺伝情報研究部門 教授
	正木 孝幸	大分大学医学部総合内科学第一 助教
	中尾 一和	京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科 教授
	久保 千春	九州大学病院 病院長
	中里 雅光	宮崎大学医学部神経呼吸内分泌代謝学 教授
	尾崎 紀夫	名古屋大学大学院医学系研究科精神医学 教授
	鈴木（堀田） 眞理	政策研究大学院大学保健管理センター 教授
	堀川 玲子	国立成育医療研究センター内分泌代謝科 医長
	遠藤 由香	東北大学病院心療内科 助教
	岡本 百合	広島大学保健管理センター 准教授
	間部 裕代	熊本大学大学院医学薬学研究部小児発達学 助教
	横山 伸	長野赤十字病院精神科 部長

研究要旨 本調査研究の目的は、中枢性摂食異常症の成因・病態に関する基礎研究と臨床研究を組み合わせ、本症の新しい対処法・治療法の開発することである。このため、分子生物学あるいは発生工学的手法を駆使した中枢性摂食調節機構に関する基礎研究、中枢性摂食異常症の病因・病態解明のための基礎研究と臨床研究、臨床現場に有効な対処法・治療法に関する臨床研究を遂行した。基礎研究では、飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解析、低栄養母体出生児の推測される神経内分泌学的異常、神経ヒスタミン、グレリンあるいは消化管ペプチドの生理的・病態生理的意義を明らかにした。臨床研究では、fMRIを用いたヒトにおける食欲制御機構の解明、近赤外線スペクトロスコープによる神経性食思不振症の神経画像解析、中鎖脂肪酸トリグリセリドによるグレリン活性化の試み、本邦における摂食障害家族会の実態調査、小児思春期摂食障害の評価における EAT26 の有用性の検討を実施した。学校現場を対象とした全国疫学調査に向けて、全国ネットワーク拠点（宮城県、長野県、愛知県、広島県、福岡県、宮崎県、熊本県）において本症の実態調査を実施し、首都圏とほぼ同程度の有病率であることが明らかになった。

研究目的

本調査研究の目的は、中枢性摂食異常症の成因・病態に関する基礎研究と臨床研究を組み合わせ、本症の新しい治療法と予防法の開発を推進することである。このため、中枢性摂食異常症の病因・病態解明のための基礎研究と臨床研究、臨床現場に有効な対処法・治療法の開発のための臨床研究を推進する。現在、確立しつつある摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワークを活用して、東京都内における本症の疫

学調査を開始するとともに他の地域（宮城県、長野県、愛知県、広島県、福岡県、熊本県、宮崎県）における疫学調査の実施している。本研究の推進により、難治性疾患としての中枢性摂食異常症の克服に向けて有効な予防法と治療法に関する基盤データの集積とインフラの整備を推進し、患者自身の QOL の向上のみならず、本症患者と予備軍の減少により医療福祉行政における経済損失の抑制につなげたい。

研究方法

基礎研究では、摂食・エネルギー代謝調節関連分子あるいは受容体の遺伝子改変動物を用いて、中枢性摂食異常症の成因と病態に関する摂食・エネルギー代謝調節の分子機構と中枢性摂食異常症における主要な中枢性神経伝達分子の病態生理的意義を検討した。臨床研究では、機能的磁気共鳴画像法（functional MRI, fMRI）や近赤外線スペクトロスコピーなどの方法論も導入し、摂食障害の病態の解析を開始した。「摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワーク形成を目指したワーキンググループ」により、前年度より進めている小学生・中学生・高校生を対象とした全国疫学調査のパイロット研究を継続した。特に、小児思春期摂食障害の評価における EAT26 の有用性の検証とともに、基幹医療施設のネットワークの充実に向けて、本邦における摂食障害家族会の実態調査を実施した。

（倫理面への配慮）

健常者及び中枢性摂食異常症患者を対象とした臨床研究は、その意義を十分に説明し、同意を得た上で、各研究施設で定められた臨床研究の規定に従って慎重かつ注意深く進めた。全国疫学調査では分担研究者が所属する各施設の現状を踏まえて、倫理委員会の承認を得た上で、養護教諭、被験者と保護者から同意を得た。実験動物を用いた基礎研究は、実験動物飼育及び保管に関する基準、各研究施設における実験動物委員会の指針に基づき、実験動物愛護を配慮して行った。

研究結果と考察

＜飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解析＞
既に、絶食・飢餓などのエネルギー欠乏状態において、転写因子 FOXO1 の遺伝子発現がマウス骨格筋において著しく増加することを見出した。本年度は、飢餓時の骨格筋における FOXO1 の作用機序の解明を目的とした。FOXO1 過剰発現遺伝子改変マウスを使用し、野生型同腹仔の骨格筋と比較して、タンパク質・アミノ酸代謝に関する遺伝子発現と代謝産物を測定した。その結果、FOXO1 はグルタミン合成酵素遺伝子を発現制御することが判明した。飢餓状態では、骨格筋において構成

タンパク質はアミノ酸に分解され、これは肝臓において糖新生に利用される。グルタミンは糖新生基質として利用されるとともに、アミノ酸分解において生じるアンモニアの消去に関与することが知られている。以上により、FOXO1 によるグルタミン合成は生体の重要な飢餓適応の一つとなる可能性がある。（小川）

＜低栄養母体出生児の推測される神経内分泌学的異常＞
本年度は、神経性食欲不振症発症への胎児期の栄養状態の関与の有無を明らかにするために妊娠中に摂餌制限した母ラットからの出生時低体重ラット仔を解析した。出生時低体重ラットは成長後に新規環境において多動を示し、離乳時までに追いつき成長しない低体重雄ラットはストレス負荷後の強い摂餌抑制を示した。胎児期の低栄養が成長後に神経性食欲不振症の主症状である食行動の異常と活動性の亢進などに類似した行動異常が観察されたことより、やせ女性や神経性食欲不振症患者の妊娠中は胎児を良好な栄養状態に維持すること、すなわち母体の栄養状態を良好に維持することが重要であると考えられる。（芝崎）

＜熱代謝の調節におけるグレリン作用の解析＞
本年度は、脳内における低エネルギー状態におけるグレリン作用を検討した。2-デオキシ-D-グルコース投与により脳内を糖欠乏状態にすると、野生型（WT）およびグレリン遺伝子欠損（*ghrl*^{-/-}）マウスのいずれも体温が低下したが、*ghrl*^{-/-}マウスでは体温の低下幅が小さかった。メルカプト酢酸ナトリウムによる脂肪酸β酸化の阻害において両マウスの体温変動には差がなかったことより、グレリンは糖レベルの低下を感知して体温を調節すると考えられた。更に、グレリンの脳内投与により腹腔温のみならず脳温が低下することが明らかになった。一方、末梢投与したグレリンは、脳温は変化させずに腹腔温のみを低下させた。以上より、中枢および末梢から分泌されるグレリンはいずれも体温を低下させるが、両者の異なる意義が示された。（児島）

＜飢餓時における視床下部ヒスタミン機能のエネルギー調節に果たす役割＞
従来、飢餓状態において活性化される神経ヒスタミンが、視床下部において飢餓による体温低下を抑制し、扁桃体で情

動反応を伴う強い食行動抑制反応に深く関与すること、前頭前野、背側海馬などの視床下部神経ヒスタミンと密に連携する神経核は飢餓時の食行動を調節することを報告してきた。本年度は、飢餓による神経ヒスタミン活性化モデル動物を用いて、1) 12時間絶食におけるエネルギー調節機能、2) 背側海馬の食行動調節機能、3) 側坐核の行動調節機能を解析した。その結果、1) 12時間絶食負荷はヒスタミン H1 受容体および褐色脂肪組織 UCP1 タンパク発現誘導を介して低体温を抑制し、2) 背側海馬では食行動変容を促進性に制御するが、3) 側坐核では飢餓時の食行動抑制反応には深く関与しない可能性が示唆された。(正木)

<機能的核磁気共鳴画像法を用いたヒトにおける食欲制御機構の解明> ヒトの食欲制御機構を解析する一手法として機能的核磁気共鳴画像法 (functional MRI: fMRI) による脳神経活動の測定が報告されている。本年度は、fMRI の食欲評価法としての有用性を具体的な症例において検証しつつある。症例は 60 歳女性、2 型糖尿病の血糖コントロール目的にて入院となった。食欲抑制作用を有する抗糖尿病薬リラグルチドを導入し、治療前後においてスコアによる食欲および食行動を評価し、fMRI による摂食関連領域の脳神経活動を測定した。その結果、リラグルチドにより満腹感の増強と食行動の改善が認められ、報酬や情動に関連する領域の脳神経活動が抑制された。以上により、食欲評価法としての fMRI の有用性が示唆された。(中尾)

<中鎖脂肪酸トリグリセリド投与によるグレリン活性化に関する検討> グレリンが食欲亢進や筋肉量増加などの作用を示すためには、中鎖脂肪酸 (MCT) によるアシル化が必須である。本年度は、低栄養状態の神経性食欲不振症患者 (AN) に十分量の MCT を投与し、グレリンの活性化、GH と IGF-1 の血中濃度、体組成の変化を検討した。症例 (30 名) に対して投与カロリーを漸増し、MCT を高濃度 (>6g/日)、中濃度 (1~6g/日)、低濃度 (<1g/日) に分類して 8 週間投与した。MCT 高濃度群のみ活性型グレリンが有意に上昇したが (P < 0.05)、その他の因子は各群間で有意な変化はなかった。MCT による脂肪酸修飾が活性型グレリン

上昇の機序として考えられ、今後、MCT を用いたグレリンの低栄養患者への臨床応用の可能性が示唆された。(久保)

<消化管ペプチドによる末梢からの摂食調節シグナルの解析> ラットにおいて末梢グレリン投与は迷走神経求心線維の発火頻度を抑制し、摂食亢進する。本年度は、グレリンと GLP-1 との相互作用による摂食量と迷走神経求心線維の発火頻度を検討した。明期自由摂餌下において、ラットにグレリンの静脈投与 30 分後に GLP-1 を投与するとグレリン単独投与と同様に摂食量が増加し、迷走神経求心線維の発火頻度は減少した。絶食ラットへの GLP-1 投与は、その後のグレリン投与による摂食亢進作用と迷走神経求心線維の発火頻度抑制作用を抑制した。グレリンと GLP-1 は迷走神経を介して相互に抑制することにより、摂食を調節していることが明らかとなった。(中里)

<神経性食思不振症の神経画像解析> 本年度は、神経性食思不振症患者 (AN) の中枢神経系病態を明確化するために近赤外線分光鏡 (NIRS) および MRI を用いて検討した。AN 群では言語流暢性課題の NIRS では、両側前頭葉眼窩皮質 (OFC) に反応低下が見られ、Voxel-based morphometry を用いた MRI 解析では、頭頂後頭連合野、帯状部、右側視床に体積低下が認められた。また摂食障害評価尺度 (EDI-2) と NIRS との関連の検討を行い、AN 群で両側 OFC の反応性と社会的孤立の逆相関が、CTL 群で正の相関が確認された。NIRS の結果からは、CON 群で OFC の機能が高いため社会的孤立を生じず、AN 群で OFC の機能が低く社会的に孤立するが自覚に乏しい可能性が示された。MRI 解析より、AN 群では体性感覚や視空間認知、感覚統合の異常、情動や注意の障害が生じていることが示唆された。(尾崎)

<本邦における摂食障害家族会の実態調査> 本年度は、本邦における摂食障害の家族会の活動実態を明らかにするために、全国の精神保健福祉センターへの聞き取りや文献やインターネット検索で情報が得られた 50 家族会に郵送でアンケートを行った。内容は、所在地、主催者名、継続年数、目的と内容、開催時間や回数等で、49 家族会から回答が得られた。家族会は関東、中部、関西地方

に集積し、19 県で家族会の存在を把握できなかつた。家族会の目的は、相互支援 48 家族会 (98.0%)、疾患の知識や対処技能の学習が 43 家族会 (87.8%)、医療や福祉の充実のための改善を目的とした社会的運動が 8 家族会 (16.3%) であった(複数回答)。44 家族会 (89.8%) が一般への情報公開を希望した。(鈴木)

<小児思春期摂食障害の評価における EAT26 の有用性> 摂食障害の現状把握と評価方法の検証を目的とし、本年度は、倫理委員会の承認のもとに調査協力に同意した首都圏の小学校 5 年生～中学 3 年生(男子 507 名, 女子 671 名, 10.6 歳～15.9 歳, 平均 13.8 歳)を対象として研究協力校にて EAT26 質問紙調査を実施、過去 2 年間の身長・体重実測値から BMI・体重変化(前年度比)を算出し、EAT26 の結果と照合した。年齢別 BMI 90 パーセントイル以上を肥満、10 パーセントイル以下をやせとした。やせの学童・生徒の割合は、女子で約 20%と高く、肥満は 1.5%と少なかった。やせ・体重減少群での EAT26 において、摂食行動異常は、男子の 14.6%、女子の 28%に認めた。肥満・体重増加群では女子の約 70%が摂食行動異常群であった。

学童思春期における食行動中等度障害・やせの検出に、EAT26 の有用性は認められなかったが、肥満女子で EAT26 の食行動障害を認めたものが多く、やせのみならず肥満にも摂食障害の要素を認めた。(堀川)

<中枢性摂食異常症の全国疫学調査> 本年度は宮城県、長野県、愛知県、広島県、福岡県、宮崎県、熊本県において地域調査を実施し、日本各地の患者数の動向を把握・比較検討した。長野県、福岡県、熊本県においては初めての疫学調査であった。熊本県は、2010 年度の首都圏と同様に小学校 5 年生から高校 3 年生までを対象に養護教諭へのアンケートで調査した。神経性食欲不振症の女子の有病率は、小学 5～6 年生、中学 1 年生、2 年、3 年、高校 1 年、2 年、3 年はそれぞれ、0.010% (2010 年度首都圏: 0.014%)、0.039% (0.089%)、0.098% (0.175%)、0.194% (0.398%)、0.173% (0.212%)、0.234% (0.269%)、0.357% (0.260%) であった。中学 2 年生から患者数が急増する傾向は首都圏と

同様であったが、有病率のピークは高校 3 年生であり、首都圏より高率であった。女子高校生の神経性食欲不振症の有病率は、長野県の公立高校が 0.200%、福岡県の私立高校が 0.267%で、東京都とほぼ同等であった。米国の 13～18 歳の女性の神経性食欲不振症の有病率 (2011 年) は 0.2～0.3%であり、本研究で得られた女子高校生の有病率に匹敵するものである。

EAT26 は異常な摂食行動をスクリーニングするための質問紙であり、長野県の高校生では EAT26 高得点群に神経性食欲不振症患者は認められず、EAT26 の点数と BMI の間に相関はなかった。広島大学の新生の検討でも EAT26 高得点者だけから摂食障害を発見することは困難であり、福岡県私立高校女子で神経性食欲不振症が疑われる BMI 18 kg/m² 以下かつ EAT20 点以上の症例は 0.5%に上り、実際の有病率を上回った。以上より、EAT26 だけで摂食障害の診断はできず、身長・体重の実測値や面接が必要であることが再確認できた。(鈴木、堀川、遠藤、横山、尾崎、岡本、久保、間部、中里)

E. 結論

臨床現場において有効な中枢性摂食異常症に関する対処法・治療法の開発を目指して、本症の成因・病態に関する基礎研究と臨床研究を推進した。基礎研究により中枢性摂食異常症に関連する病態と中枢性摂食調節の分子機構が明らかになり、臨床研究により中枢性摂食異常症の病因・病態の臨床的理解が進んだ。摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワークを活用して、本症の実態把握に向けた全国疫学調査を実施した。

F. 健康危険情報

特になし

摂食障害 小学生も

厚労省研究班 初の調査

小学6年生の女子の千人に1人が拒食症を発症している疑いがあることが、厚生労働省研究班（主任研究者＝小川佳宏・東京医科歯科大教授）の調査でわかった。10代後半以降に発症するイメージが強い拒食症や過食症といった摂食障害について、小学生での発症を裏付ける調査は初めてとい

う。10月5日に東京である摂食障害のシンポジウムで発表する。

2010年度に東京都と神奈川県内の小中学校（140校）で調査した。小学5年と中学3年の計2万4727人にスクリーニング検査を実施。身長や体重の推移や養護教諭への聞き取り結果もふまえ、未受診の

子を含めた拒食症の有病者数（有病率）を割り出した。

患者の大半を占める女子（1万2593人）についてみると、1万人あたりの有病者は小学5年で6・9人、6年で10・3人。中学生は1年で8・9人、2年で17・5人、3年で53・1人だった。調査は小学5年以上が対象だったが、養護教諭の聞き取りでは小学3年で発症した例もあった。

摂食障害はスリムさをほめそやす風潮の影響も指摘され、成長期にかかると低身長や骨密度の低下といっ

た後遺症をのこす恐れがある。研究班の鈴木真理・政策研究大学院大学教授（内分泌学）は「小学生にまで広がっていることがはつきりしたため、今後医療と学校が連携して取り組む必要がある」と話す。（永田豊隆）

（朝日新聞 2012年9月28日）

論点

若い女性にとって拒食症や過食症などの「摂食障害」は珍しい病気ではなくなつた。厚生労働省研究班の2010年の調査では、首都圏の女子の拒食症は小学校3、4年生から発症しており、1000人当たりの患者数は小学6年生は1人、中学3年生5人、高校生2・5人だった。

研究班では1983年と92年にも同様の調査を実施したが、その時と比較すると、発症の低年齢化と中高生の有病率の高さが目立つ。また、最近では結婚・出産後の女性や、男性の発症も増加している。

拒食症を発症すると、患

深刻な拒食と過食

者は著しくやせてしまう。原因は、過激なダイエットではなく、挫折体験などのストレスであることが多い。専門家の研究では、死亡率も5〜13%と高い。

心理学者の見解によると、やせると感受性が鈍くなつてつらさを感じにくくなる。体重が増加すると、その状態から脱し、現実に向き合わねばならない。この

こうした摂食障害が慢性化し、社会参加ができない人が増えると、福祉・医療費が増加する一因になる。

欧米諸国には摂食障害だけを治療する専門施設が数多くあり、死亡率の減少などで実績を上げている。

こうした専門施設では、栄養指導や、内科的・心理的治療のほか、就労や社会的復帰の援助、生活支援、家

族への援助が総合的に行われている。

挫折して傷ついた心による病気には、特効薬はない。心身を休ませ、栄養を改善し、拒食や過食に代わる適切なストレス対処技能や対人関係能力などを身につけさせている。5年ほどかかる地道な治療である。

ど、適切な治療を受ける前に疲弊してしまう。この医療環境は30年間変わっていない。

そこで、医師、臨床心理士などからなる「日本摂食障害学会」が中心になって、公的専門治療機関の創設を求めて、「摂食障害センター設立準備委員会」を2010年11月に設立し、これまで2万筆を超える署名を集めた。この10月5日に委員会が主催した講演会は、家族や患者の参加で定員を超える盛会になった。

公的専門治療機関に全国の情報を集め、相談できる場にした。モデル治療を行い、全国の医療機関や精神保健福祉センターなどに伝達し、患者数減少につなげていきたい。患者や家族が病気の苦勞に加え、貧弱な治療環境の苦勞を背負う時代を終わらせるべきだ。



鈴木 真理氏

政策研究大学院大学保健管理センター教授。内分泌内科医。日本摂食障害学会理事。厚生労働省摂食異常症研究班班員。57歳。

「摂食障害」専門施設を

ため、患者は病院での受診や治療を拒む傾向にある。

一方、過食症は、短時間大量の食品を食べる発作が起きて、自制できないのが特徴だ。過食が唯一のストレス発散法になるので、習慣化しやすい。拒食症よりもはるかに多数の患者がいるとみられている。

欧米と同等の有病率にもかかわらず、日本にはこのような施設はない。日本では、「摂食障害」の病名では栄養食事指導料は認められないし、保険からお金が支払われる薬はない。診療報酬が実態に見合わないために専門医は増えない。

患者とその家族は医療機関を求めて駆け回り、初診まで数か月待たされるなど、適切な治療を受ける前に疲弊してしまう。この医療環境は30年間変わっていない。

そこで、医師、臨床心理士などからなる「日本摂食障害学会」が中心になって、公的専門治療機関の創設を求めて、「摂食障害センター設立準備委員会」を2010年11月に設立し、これまで2万筆を超える署名を集めた。この10月5日に委員会が主催した講演会は、家族や患者の参加で定員を超える盛会になった。

〒104-8243 読売新聞東京本社編集委員室 kaisetsu@yomiuri.com

平成 24 年度

II. 研究者名簿

中枢性摂食異常症に関する調査研究

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	小川 佳宏	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 糖尿病・内分泌・代謝内科	教 授
分担研究者	芝崎 保	日本医科大学大学院医学研究科 生体統御科学	教 授
	中尾 一和	京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科	教 授
	児島 将康	久留米大学分子生命科学研究所 遺伝情報研究部門	教 授
	正木 孝幸	大分大学医学部 総合内科学第一講座	助 教
	中里 雅光	宮崎大学医学部 内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	教 授
	尾崎 紀夫	名古屋大学大学院医学系研究科 精神医学・親と子どもの心療学分野	教 授
	鈴木（堀田） 眞理	政策研究大学院大学 保健管理センター	教 授
	久保 千春	九州大学病院	病院長
	堀川 玲子	国立成育医療研究センター 内分泌代謝科	医 長
	遠藤 由香	東北大学病院 心療内科心身医学	助 教
	岡本 百合	広島大学保健管理センター 精神医学	准教授
	間部 裕代	熊本大学医学部附属病院 小児発達学	助 教
横山 伸	長野赤十字病院 精神科精神医学	部 長	
事務局	菅波 孝祥	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 臓器代謝ネットワーク講座	特任教授

平成 24 年度

Ⅲ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解明

分担研究者	小川 佳宏	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 糖尿病・内分泌・代謝内科 教授
	亀井 康富	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科臓器代謝ネットワーク講座
	田中 都	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科糖尿病・内分泌・代謝内科
	菅波 孝祥	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科臓器代謝ネットワーク講座

研究要旨 中枢性摂食異常症の中でもやせを主体とする神経性食欲不振症（拒食症）では、身体的な栄養障害（飢餓状態）を呈することにより、重症例では体力や筋力の低下により転倒しやすくなり、運動や日常生活が困難となる。中枢性摂食異常症の病態は飢餓や低栄養と密接に関連しており、本研究では、中枢性摂食異常症において認められる全身の飢餓応答として、飢餓における骨格筋代謝と骨格筋萎縮に関連する遺伝子発現制御の分子機構を解析した。

飢餓や激しい運動、全身の代謝は大きく変動する。骨格筋においては、まずグリコーゲンが解糖系にて消費され、その後、筋タンパク質に由来するアミノ酸（特に分岐鎖アミノ酸(BCAA)）がTCA回路にて消費される。アミノ酸の分解に伴い、アミノ基由来のアンモニアが副産物として生成されるが、これは肝臓の尿素回路にて正しく処理される必要がある。一方、Forkhead protein-O1 (FOXO1) はフォークヘッド型の転写因子であり、生体代謝の同化ホルモンであるインスリンと拮抗することが知られている。我々はこれまでに、飢餓や激しい運動等のエネルギー欠乏状態において転写因子FOXO1遺伝子の発現が骨格筋で著しく増加することを見出した。また、骨格筋特異的FOXO1過剰発現マウス (FOXO1マウス) では、骨格筋の萎縮が生じることを示した。本研究では骨格筋アミノ酸代謝の主要制御因子としてFOXO1を想定し、検証を行なった。本研究の遂行による、絶食や極端なダイエットにより誘導される骨格筋の量的・質的な変化の分子機構の解明は、中枢性摂食異常症の病態の理解につながると考えられる。

研究目的

中枢性摂食異常症の中でもやせを主体とする神経性食欲不振症（拒食症）では、身体的な栄養障害（飢餓状態）を呈することにより、重症例では体力や筋力の低下により転倒しやすくなり、運動や日常生活が困難となる。すなわち中枢性摂食異常症の病態は飢餓や低栄養と密接に関連している。

飢餓や激しい運動によって、全身の代謝は大きく変動する。骨格筋においては、まずグリコーゲンが解糖系にて消費され、その後、筋タンパク質に由来するアミノ酸（特に分岐鎖アミノ酸(BCAA)）がTCA回路にて消費される。アミノ酸の分解に伴い、アミノ基由来のアンモニアが副産物として生成されるが、これは肝臓の尿素回路にて正しく処理される必要がある。一方、

Forkhead protein-O1 (FOXO1) はフォークヘッド型の転写因子であり、生体代謝の同化ホルモンであるインスリンと拮抗することが知られている。我々はこれまでに、飢餓や激しい運動等のエネルギー欠乏状態において転写因子 FOXO1 遺伝子の発現が骨格筋で著しく増加することを見出した。また、骨格筋特異的 FOXO1 過剰発現マウス (FOXO1 マウス) では、骨格筋の萎縮が生じることを示した。本研究では骨格筋アミノ酸代謝の主要制御因子として FOXO1 を想定し、検証を行なった。そして、中枢性摂食異常症において認められる全身の飢餓応答として、飢餓における骨格筋代謝と骨格筋萎縮に関連する遺伝子発現制御の分子機構を解析した。

研究方法

1. 絶食時の骨格筋における遺伝子発現
野生型 C56BL6 マウスを使用し24時間絶食に供した。同週令の骨格筋と比較して、FOXO1 およびアミノ酸代謝関連遺伝子発現を解析した。
2. FOXO1 マウス骨格筋におけるアミノ酸代謝変動
FOXO1 マウスを使用し、野生型同腹仔の骨格筋と比較して、タンパク質・アミノ酸代謝に関する遺伝子発現および代謝産物を測定した。骨格筋より、メタノール/H₂O によりアミノ酸画分を抽出し、アミノ酸含有量を測定した。
3. C2C12 筋細胞での FOXO1 によるグルタミン合成酵素遺伝子発現への作用
筋細胞におけるグルタミン合成酵素 (GS) 遺伝子発現への FOXO1 の効果を研究するために、恒常的活性型の FOXO1 とタモキシフェン (TAM) に特異的に応答する改変型エストロゲン受容体リガンド結合と読み枠をあわせたものを安定的に発現する C2C12 細胞を用いた。これらの細胞は融合タンパク質はリガンド非存在下で細胞質に存在し、TAM 処理で急速に核に移行することが示されている。
4. マウス GS プロモーターへの FOXO1 の影響
mRNA のデータは筋細胞で GS が FOXO1 の転写標的であることを示唆した。そこで、マウス GS プロモーターが FOXO1 によって活性化されるかどうか、トランジェントトランスフェクションレポーターアッセイを施行した。
5. トレッドミルを用いた運動負荷試験
エネルギー欠乏状態を引き起こすため、激しい運動を処置した。本実験の実施日前日に負荷速度 20m/min 40min で順化走行させた。また、マウスの運動能力の個体差を考慮し、20m/min 40min を走行不可能であったマウスは実験で使わないこととした。実験としては、負荷時間 0min、60min、90min、120min の計 4 群で行い、負荷速度は 20m/min とした。

(倫理面への配慮)

実験に用いた動物に対しては、動物愛護上の配慮として、長時間にわたり強い苦痛をもたらす方法を適用する時には、しかるべき鎮痛、鎮

痛剤、または麻酔剤を獣医学的に認められた方法を用い、あるいは適切な麻酔剤を用いて安楽死させた。

研究結果

1. 絶食により FOXO1 mRNA の発現が顕著に誘導された。またグルタミン合成酵素 (GS) の遺伝子発現が顕著に増加していた。分岐鎖アミノ酸代謝酵素 (BCKDH)、アラニンアミノ基転移酵素の遺伝子発現はわずかに増加した。
2. FOXO1 マウスの骨格筋内のグルタミン含有量はコントロールマウスに比して有意に増加していた。さらに、骨格筋内で重要なアミノ酸代謝遺伝子の発現量を検討した。すると、分岐鎖アミノ酸代謝酵素 (BCAT, BCKDH)、アラニンアミノ基転移酵素などの遺伝子発現は増加していなかったが、グルタミン合成酵素 (GS) の遺伝子発現が顕著に増加していた。
3. TAM 処理により FOXO1 の標的遺伝子として既知である Gadd45 のみならず GS mRNA を増加させた。TAM の非存在下の FOXO1 (3A) 細胞、または空のベクター (モック) を安定的に発現させたコントロール C2C12 細胞では GS mRNA の発現の変化は観察されなかった。これらの結果により、筋細胞において FOXO1 を活性化により GS の発現がすることが示唆された。
4. 4-kb のマウスプロモーターを単離・シーケンスし、FOXO1 結合サイト (GTAAACAA) の存在を確認した。この FOXO1 結合サイトを含む GS プロモーターを Luc レポーター遺伝子につなげたプラスミドを解析したところ、FOXO1 は GS 遺伝子由来のレポーター活性をトランスフェクションアッセイで増加させた。加えて、コンセンサス FOXO1 結合サイトに変異を入れると、FOXO1 誘導性の Luc 活性は消失した。これらの観察は、GS 遺伝子中の FOXO1 結合配列を介して FOXO1 は GS 遺伝子を発現増加させることを示唆する。
5. 運動後ただちに尾部より採血を行い、ポケットケム BAPA-4140 を用いて血中アンモニア濃度を測定した。その後、頸椎脱臼により安楽死させ骨格筋 (腓腹筋及びヒラメ筋) を採取し液体窒素

で凍結させた。運動により血中のアンモニア濃度の増加がみられた。しかし本実験では負荷時間 90min までは時間に比例して血中のアンモニア濃度は増加していたが、負荷時間 120min では 60min と同程度まで低下していた。今後、FOXO1 マウスを用いて運動時の血中アンモニア値を検討する。

考察

FOXO1 が骨格筋で顕著に増加している飢餓状態においては、骨格筋は萎縮が生じ、構成タンパク質を分解し糖新生に利用される。グルタミンは、糖新生の基質として利用されると共に、アミノ酸分解時に生成されるアンモニアの消去にも役割を果たすことが知られる。すなわち FOXO1 によるグルタミン合成は生体の飢餓適応の一序である可能性がある。一方、FOXO1 は、骨格筋アミノ酸代謝に重要な分岐鎖アミノ酸代謝酵素 (BCAT, BCKDH)、アラニンアミノ基転移酵素などの遺伝子発現は活性化せず、骨格筋アミノ酸代謝においての他の転写因子との役割分担があることが示唆される。

結論

本研究では、中枢性摂食異常症において認められる全身の飢餓応答として、飢餓における骨格筋代謝と骨格筋萎縮に関連する遺伝子発現制御の分子機構を解析した。本研究により、FOXO1 が摂食時の骨格筋でグルタミン合成酵素の遺伝子発現調節を行なうことが判明し、飢餓時のアミノ酸代謝およびアンモニア消去に役割を果たすことが示唆された。

研究発表

論文発表

1. Ehara T, Kamei Y, Takahashi M, Yuan X, Kanai S, Tamura E, Tanaka M, Yamazaki T, Miura S, Ezaki O, Suganami T, Okano M, Ogawa Y. Role of DNA methylation in the regulation of lipogenic glycerol-3-phosphate acyltransferase 1 gene expression in the mouse neonatal liver. **Diabetes** 61: 2442-2450, 2012.

2. Watanabe Y, Nakamura T, Ishikawa S, Fujisaka S, Usui I, Tsuneyama K, Ichihara Y, Wada T, Hirata Y, Suganami T, Izaki H, Akira S, Miyake K, Kanayama HO, Shimabukuro M, Sata M, Sasaoka T, Ogawa Y, Tobe K, Takatsu K, Nagai Y. The Radioprotective 105/MD-1 complex contributes to diet-induced obesity and adipose tissue inflammation. **Diabetes** 61: 1199-1209, 2012.
3. 亀井康富、田中都、菅波孝祥、小川佳宏「飢餓応答の分子機構と中枢性摂食異常症」最新医学第 67 巻第 9 号 88 (2020) -92 (2024) 2012 最新医学社

学会発表

1. 亀井康富、笠原知美、金井紗綾香、岡淳一郎、三浦進司、江崎治、菅波孝祥、北村忠弘、小川佳宏：「飢餓時の骨格筋で転写因子 FOXO1 はグルタミン代謝を調節する」第 6 回日本アミノ酸学会大会 2012 年 9 月 千葉
2. 亀井康富、服部真季、笠原知美、杉田聡、金井紗綾香、岡淳一郎、三浦進司、江崎浩、菅波孝祥、北村忠弘、小川佳宏：「飢餓時の骨格筋でフォークヘッド型転写因子 FOXO1 はアミノ酸代謝を調節する」第 33 回日本肥満学会 2012 年 10 月 京都

知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

低栄養母体出生児の推測される神経内分泌学的異常（第2報）：
ラットモデルでみられた新規環境下での多動とストレス負荷後の摂餌量の減少

分担研究者	芝崎 保	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 教授
	根本 崇宏	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学
	大島 久幸	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学

研究要旨 神経性食欲不振症への胎児期の栄養状態の関与の有無を明らかにするため、低出生体重ラット仔を用いて新規環境での活動量とストレス負荷後の摂餌量の解析を行った。妊娠中の摂取カロリーを対照群の60%に制限した母ラットからの出生仔のうち、離乳時の21日齢までに対照ラットの平均体重-2SD以内まで追いつき成長しなかった低体重ラット (SGA-NCG) 群では、行動解析装置に初回投入時の活動量が対照ラットに比べ有意に多かった。対照ラットへの18時間絶食後の拘束ストレスの負荷は、負荷1時間後の摂餌量を拘束ストレスを負荷しなかった対照ラットの摂餌量に比べ減少させた。SGA-NCGラットも拘束ストレス負荷により負荷1時間後の摂餌量の減少がみられ、その減少は対照ラットの摂餌量の減少よりも強かった。胎児期の低栄養が成長後に神経性食欲不振症の病態に類似した行動の異常をもたらすことが明らかになり、やせ女性や神経性食欲不振症患者の妊娠中は胎児を良好な栄養状態に維持することが重要であると考えられる。

研究目的

研究方法

中枢性摂食異常症発症への遺伝学的因子に関する研究はいくつか報告されているが[1-8]、未だその原因遺伝子は不明である。中枢性摂食異常症患者からの出生児は成長期に食行動の異常が見られるが、そのほとんどは母親の食行動の異常による影響と考えられている[9-11]。神経性食欲不振症患者では低体重児出産のリスクが高くなる[12]ばかりでなく、その子が思春期に不食を呈するとの報告もある[13]。低出生体重児は注意欠陥多動性障害 (ADHD) や学習障害を呈する可能性が高い[14-16]。増加しているやせ女性や神経性食欲不振症患者の妊娠中の栄養状態は必ずしも良好であるとは限らない。そこで本研究では神経性食欲不振症の発症機序への胎児期の低栄養状態の関与の可能性を検討することを目的に、妊娠中に摂餌量を制限した母ラットからの出生仔のうち、離乳時までに対照ラットの平均体重の-2SDまで追いつき成長しなかった低体重ラット (SGA-NCG)を用いて、それらの新規環境での活動量とストレス負荷後の摂餌量を解析した。

9週齢のウイスター系雌ラットを正常雄ラットと交配後、妊娠全期にわたり自由摂餌下で飼育した対照群と、対照群の摂餌量の60%まで摂餌量を制限した (FR) 群との2群に分けた。出産後はいずれの群の母ラットも自由摂餌下で飼育し、出生仔は出産後21日目に離乳させた。離乳時に体重を測定し、FR群からの出生仔のうち対照ラットの平均体重-2SD以内まで追いつき成長しなかった群をSGA-NCG群とし、6週齢時まで自由摂餌下で飼育したそれらの雄ラットを用いて解析した。

新規環境での行動解析には自動行動解析装置 (PAW-2000, MELQUEST)を用い、赤外線ビームの遮断数を時間ごとに計測した。

前夜より18時間絶食したラットにワイヤーメッシュを用いた60分間の拘束ストレスを負荷し、その後の摂餌量を1時間ごとに24時間まで測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は日本医科大学動物実験委員会の指針に従い、同委員会の承認を得た上で行った。

研究結果

対照ラットの自動行動解析装置への初回投入1時間後の赤外線ビーム遮断数は5,026±618回であったのに対して、SGA-NCGラットでは12,048±1,107回と有意に多かった ($p<0.05$, $n=14$)。対照ラットの装置投入2および3時間後の赤外線ビーム遮断数は284±134回および520±141回まで減少した。SGA-NCGラットの装置投入2および3時間後の赤外線ビーム遮断数も2,554±814回および1,840±667回と投入1時間後に比べ減ったが、対照ラットのそれらより有意に多かった ($p<0.05$, $n=14$)。 (図1)

前夜より18時間絶食させた拘束ストレス非負荷対照ラットの摂餌量は2.36±0.07g/100g bwであったのに対して、対照ラットへの拘束ストレス負荷1時間後の摂餌量は1.90±0.05 g/100g bwと有意に減少した ($p<0.05$, $n=10$)。拘束ストレス非負荷SGA-NCGラットの1時間の摂餌量は2.08±0.07 g/100g bwであったのに対して、拘束ストレス負荷1時間後の摂餌量は1.28±0.07 g/100g bwと有意に減少し ($p<0.05$, $n=10$)、その減少量は対照ラットのそれより有意に大きかった ($p<0.05$, $n=10$)。 (図2) 24時間後の摂餌量は各群間での差がみられなかった。

結論

妊娠中にカロリー摂取制限した母ラットからの出生時低体重ラット仔のうち追いつき成長しない低体重ラットは、新規環境での多動とストレス負荷後の強い摂餌抑制を示した。胎児期の低栄養が成長後の神経性食欲不振症の病態に類似した行動の異常をもたらすことが明らかになったことから、やせ女性や神経性食欲不振症患者の妊娠中は胎児を良好な栄養状態に維持することが重要であると考えられる。

参考文献

- Holland, A.J., et al., Anorexia nervosa: a study of 34 twin pairs and one set of triplets. *Br J Psychiatry*. 145: 414-419, 1984
- Kendler, K.S., et al., The genetic epidemiology of bulimia nervosa. *Am J Psychiatry*. 148: 1627-1637, 1991.
- Bulik, C.M., et al., Heritability of binge-eating and broadly defined bulimia nervosa. *Biol Psychiatry*. 44: 1210-1218, 1998.
- Lilenfeld, L.R., et al., A controlled family study of anorexia nervosa and bulimia nervosa: psychiatric disorders in first-degree relatives and effects of proband comorbidity. *Arch Gen Psychiatry*. 55: 603-610, 1998
- Strober, M., et al., Controlled family study of anorexia nervosa and bulimia nervosa: evidence of shared liability and transmission of partial syndromes. *Am J Psychiatry*. 157: 393-3401, 2000.
- Wade, T.D., et al., Anorexia nervosa and major depression: shared genetic and environmental risk factors. *Am J Psychiatry*. 157: 469-471, 2000.
- Kortegaard, L.S., et al., A preliminary population-based twin study of self-reported eating disorder. *Psychol Med*. 31: 361-365, 2001.
- Grice, D.E., et al., Evidence for a susceptibility gene for anorexia nervosa on chromosome 1. *Am J Hum Genet*. 70: 787-792, 2002.
- Eisele, J., et al., Factors related to eating disorders in young adolescent girls. *Adolescence*. 21: 283-290, 1986.
- Ammaniti, M., et al., Malnutrition and dysfunctional mother-child feeding interactions: clinical assessment and research implications. *J Am Coll Nutrition*. 23: 259-271, 2004.
- Back, E.A., Effects of parental relations and upbringing in troubled adolescent eating behaviors. *Eat Disorders*. 19: 403-424, 2011.
- Koubaa, S., et al., Pregnancy and neonatal outcomes in women with eating disorders. *Obstet Gynecol*. 105: 255-260, 2005.
- Negrete, J.C., Cocaine problems in the coca-growing countries of South America. *Ciba Found Symp*. 166:

研究発表

- 40-50, 1992.
14. Heinonen, K., et al., Behavioural symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder in preterm and term children born small and appropriate for gestational age: a longitudinal study. *BMC pediatr.* 10: 91, 2010.
 15. Groen-Blokhuis, M.M., et al., Evidence for a causal association of low birth weight and attention problems. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 50: 1247-1254, 2011.
 16. Losh, M., et al., Lower birth weight indicates higher risk of autistic traits in discordant twin pairs. *Psychol Med.* 42: 1091-1102, 2012.

論文発表

17. Nemoto T, Mano A, Shibasaki T. Increased expression of miR-325-3p by urocortin 2 and its involvement in stress-induced suppression of LH secretion in rat pituitary. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 302: E781-E787, 2012

学会発表

根本 崇宏、芝崎 保 「妊娠中に摂取カロリー制限した母ラットより生まれた低出生体重仔の食行動とストレス反応の異常の解析」 第16回日本摂食障害学会学術集会 2012年10月 東京

知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

機能的磁気共鳴画像法を用いたヒトにおける食欲制御機構の解明

分担研究者	中尾 一和	京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科 教授
	青谷 大介	京都大学医学部附属病院探索医療センター
	海老原 健	京都大学医学部附属病院探索医療センター
	澤本 伸克	京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター
	日下部 徹	京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科
	阿部 恵	京都大学医学部附属病院探索医療センター
	酒井 建	京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科
	片岡 祥子	京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科
	海老原 千尋	京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科
	藤倉 純二	京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科
	細田 公則	京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科
	福山 秀直	京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター

研究要旨 ヒトの食欲制御機構を解析する手法の一つとして機能的磁気共鳴画像法（functional MRI: fMRI）による脳神経活動の測定が報告されている。本研究ではこれまでに、レプチン補充治療を受けた脂肪萎縮症を対象に検討を行い、ヒトにおける食欲関連脳神経活動の解析におけるfMRIの有用性を示してきた。そこで次に、より一般的な疾患である2型糖尿病患者を対象に、既に広く臨床応用されているGLP-1製剤の食欲関連脳神経活動に及ぼす影響についてfMRIを用いて検討した。2型糖尿病の60歳女性を対象に、GLP-1製剤であるリラグルチドの投与開始前後で、visual analogue scale (VAS) や食欲スコアなどによる食欲・食行動の評価およびfMRIによる食欲関連領域での脳神経活動の解析を行った。リラグルチドにより食後満足感の増強および食行動の改善が認められ、fMRIの検討においても報酬や情動に関わる領域での脳神経活動の抑制が認められた。以上より、ヒトにおける食欲制御機構の解析においてfMRIは有用であると考えられた。

研究目的

ヒトにおける摂食行動制御には、摂食中枢である視床下部と他の脳機能中枢との密接な関わりが重要であると考えられている。中枢性摂食異常症において、摂食関連領域における神経活動を評価することは、病態の発症メカニズムの解明のみならず、新しい診断法や治療法の開発に結びつくものとして有用であると考えられる。これまで、ヒトの食欲制御機構を非侵襲的に解析する事は困難とされてきた。しかし近年、ヒトの食欲制御機構を解析する手法の一つとして機能的磁気共鳴画像法（functional MRI ; fMRI）を用いた

脳神経活動の測定が報告されている。本研究ではこれまでに、脂肪組織の萎縮に伴って血中レプチン濃度が著明に低下し食欲異常（過食）を来す脂肪萎縮症患者を対象に、fMRIを用いて脳神経活動を解析し、脂肪萎縮症における過食のメカニズムおよびレプチン補充治療による過食改善作用のメカニズムを検討してきた。そこで今回、より一般的な疾患である2型糖尿病患者を対象に、既に広く臨床応用されているGLP-1製剤の食欲関連脳神経活動に及ぼす影響についてfMRIを用いて検討した。